

INNOCUITE DU VIRUS RECOMBINANT VACCINE-RAGE CHEZ
QUELQUES ESPECES NON-CIBLES

B. Brochier*, B. Languet**, J. Blancou***, I. Thomas*,
M.P. Kieny****, J.P. Lecocq****, P. Desmettre**, P.P. Pastoret*

* Fo.Re.Ra. Service de Virologie,
Faculté de Médecine vétérinaire, U.Lg.,
45 Rue des Vétérinaires, 1070 Bruxelles, Belgique

** Rhône-Mérieux, Laboratoire IFFA,

254 Rue Marcel Mérieux, 69007 Lyon, France

*** C.N.E.R.P.A.S. Ministère de l'Agriculture,
BP 9, 54220 Malzéville, France

**** Transgène S.A.,

11 Rue de Molsheim, 67000 Strasbourg, France

RESUME

L'innocuité du virus recombinant vaccine-rage a été testée en station expérimentale chez quatre espèces domestiques (bovin, mouton, chien, chat), cinq espèces sauvages (blaireau, sanglier, corneille noire, buse variable et faucon crécerelle) et deux espèces de laboratoire (furet et souris). Après inoculation, ces animaux n'ont montré aucune réaction locale et/ou générale quelles que soient la voie d'administration et la dose utilisées. De plus, ces essais ont démontré l'absence de transmission horizontale du virus recombinant vaccine-rage à des animaux neufs maintenus en contact étroit avec des sujets vaccinés.

INTRODUCTION

L'innocuité et l'activité protectrice du virus recombinant vaccine-rage (VVTG_gRAB) ont déjà été démontrées chez trois espèces sauvages cibles de la vaccination antirabique : le renard roux (Blancou et al., 1986; Brochier et al., 1987), le raton laveur (Wiktor et al., 1985; Rupprecht et al., 1986) et la mouffette rayée (Tolson et al., 1987).

L'innocuité de ce virus a également été prouvée chez le lapin et la souris (Wiktor et al., 1984 et 1985). Cependant, d'autres espèces animales, sauvages ou domestiques, sont susceptibles de consommer les appâts vaccinaux distribués dans la nature. Cette concurrence dans la prise d'appâts exercée par les espèces non-cibles a pu être montrée au cours de contrôles réalisés à la suite des campagnes de vaccination du renard utilisant une souche atténuée du virus rabique. Certains critères d'identification d'espèces (empreintes, excréments, traces de crocs dans la capsule vaccinale,...) ont permis de certifier que des chiens, des mustélidés et des micromammifères avaient ingéré du liquide vaccinal (Kalpers et al., 1987; Artois et

al., 1987). La recherche de tétracycline dans les os a également pu démontrer que des appâts avaient été consommés par des fouines (Martes fouina, L.) (Brochier et al., 1987).

La vaccination antirabique à l'aide du virus recombinant vaccine-rage écarte définitivement les dangers liés à l'utilisation d'une souche atténuée du virus rabique.

Néanmoins, les problèmes théoriques de sécurité posés par l'emploi d'un virus vivant (requis pour l'administration par voie orale) persistent avec le virus orthopox recombinant. Il convient donc de s'assurer de la totale innocuité de ce dernier en démontrant notamment son absence de pathogénicité résiduelle tant chez les espèces non-cibles que chez les espèces cibles.

La présente contribution rapporte les résultats des tests d'innocuité VVTG_gRAB réalisés chez 5 espèces sauvages européennes dont le comportement alimentaire est opportuniste et généraliste. Quatre espèces domestiques et deux espèces de laboratoire ont également été testées.

METHODES

ANIMAUX

Les espèces animales ainsi que le nombre d'individus, par espèce, inoculés à l'aide du VVTG_gRAB sont mentionnés dans les tableaux 1 et 2. Les sujets utilisés comme témoins non inoculés ne sont pas repris dans ces mêmes tableaux.

VIRUS ET PROTOCOLE DE VACCINATION

La souche 26D3 du virus recombinant vaccine (souche Copenhagen)-rage (glycoprotéine de la souche atténuée ERA du virus rabique) a été utilisée comme vaccin antirabique (Kieny et al., 1986). Les voies d'administration utilisées chez les différentes espèces sont données aux tableaux 1 et 2. Les titres des suspensions virales servant d'inoculum sont exprimées en DICT₅₀. Les administrations par voie orale ont été réalisées par dépôt direct de l'inoculum sur la muqueuse buccale. Les animaux ont été inoculés au Jour 0.

SURVEILLANCE

Après inoculation, les animaux ont été soumis à une période d'observation d'une durée minimale de 28 jours (tableaux 1 et 2). Durant celle-ci, l'état de santé (symptômes généraux et locaux) des animaux a été surveillé quotidiennement. Une attention particulière fut portée à toute apparition éventuelle de lésions de type "pox" au niveau des téguments ou/et de la muqueuse buccale.

TEST DE DIFFUSION

L'excrétion éventuelle du virus recombinant a été testée en maintenant des animaux neufs en contact étroit (témoins "contact") avec des individus vaccinés par voie orale. La recherche d'anticorps antirabiques et antivaccine a été effectuée chez ces animaux non vaccinés afin de pouvoir mettre en évidence une transmission horizontale directe ou indirecte du virus. Ce test de diffusion du virus a été pratiqué dans 5 espèces : le blaireau, le sanglier, le furet, le chat et le chien. Les nombres d'individus utilisés comme témoins "contact" sont repris dans les tableaux 1 et 2.

TABLEAU 1 Récapitulatif des tests d'innocuité pratiqués chez les espèces sauvages européennes

ESPECE	NOMBRE D'ANIMAUX	ADMINISTRATION DU RECOMBINANT VOIE	DOSE (DICT 50)	DUREE D'OBSERVATION EN JOURS	TEST DE DIFFUSIBILITE
BLAIREAU (Meles meles)	6	orale	$10^{8.3}$	45	2 animaux "contact "
SANGLIER (Sus scrofa)	4	orale	$10^{8.3}$	88	2 animaux "contact "
CORNEILLE NOIRE (Corvus corone)	16	orale	10^8	28	-
BUSE VARIABLE (Buteo buteo)	6	orale	10^8	60	-
FAUCON CRECERELLE (Falco tinnunculus)	2	orale	10^8	60	-

TABLEAU 2 Récapitulatif des tests d'innocuité pratiqués chez les espèces domestiques et de laboratoire

ESPECE	NOMBRE D'ANIMAUX	ADMINISTRATION DU RECOMBINANT VOIE	DOSE (DICT 50)	DUREE D'OBSERVATION EN JOURS	TEST DE DIFFUSIBILITE
CHIEN	4	orale	$10^{8.6}$	69	2 animaux " contact "
	4	orale	$10^{9.6}$	69	-
	3	sous cutanée	$10^{4.6}$	69	-
	3	sous cutanée	$10^{6.6}$	69	-
	3	sous cutanée	$10^{6.6}$	69	-
CHAT	4	orale	10^8	115	4 animaux " contact "
	3	sous cutanée	10^4	52	-
	3	sous cutanée	10^6	52	-
	3	sous cutanée	10^8	52	-
BOVIN	2	Intra dermique	2 10^8	35	-
	1	Intra musculaire	10^8	35	-
	1	sous cutanée	10^8	35	-
MOUTON	4	orale	$10^{7.3}$	90	-
FURET	2	orale	10^8	28	2 animaux " contact "
	2	orale	10^9	28	-
SOURIS	20	orale	$10^{2.5}$	14	-
	20	orale	$10^{4.5}$	14	-
	20	orale	$10^{8.5}$	14	-

RESULTATS

Au cours de la période d'observation, aucune mortalité n'a été relevée chez les animaux inoculés. Durant cette même période, l'état de santé de ces derniers est resté normal (absence de signe clinique et de lésion de type "Pox").

Une légère réaction locale de courte durée a cependant été observée chez les bovins vaccinés par les voies intramusculaire et intradermique.

Aucune séroconversion envers le virus de la rage ou le virus de la vaccine n'a pu être détectée chez les individus neufs maintenus en contact étroit avec les sujets vaccinés par voie orale.

DISCUSSION

Les résultats obtenus à la suite de ces essais démontrent l'absence de pathogénicité du virus recombinant vaccine-rage chez le blaireau, le sanglier, la corneille noire, la buse variable, le faucon crécerelle, le furet, le chien, le chat, le bovin, le mouton (Soria Baltazar et al., 1987) et la souris de laboratoire. Il semble donc que l'utilisation de cette souche modifiée du virus de la vaccine est dépourvue de risque.

L'obtention du VVTG_gRAB a impliqué la déficience en gène thymidine kinase du virus de la vaccine. Cette modification génomique du virus parental représente un important facteur d'atténuation et, par là, une garantie supplémentaire d'innocuité.

Les essais menés chez la souris démontrent la supériorité du virus recombinant en matière de sécurité puisque les souches atténuées SAD du virus rabique, administrées par voie orale, restent pathogènes dans cette espèce (Schneider et Cox, 1983).

L'excrétion du VVTG_gRAB accompagnée de transmission horizontale à des animaux neufs n'a pas pu être mise en évidence chez 5 espèces. Cette observation permet d'écarter les risques potentiels d'ordre épidémiologique encourus par l'usage d'un vaccin constitué d'une souche recombinée d'orthopox.

BIBLIOGRAPHIE

- Artois, M., Chillaud, T., Maillot, E., Rigal, P., Blancou, J. 1987. Première campagne de vaccination antirabique du renard par voie orale menée en France. Contrôles d'efficacité chez le renard et d'innocuité chez les micromammifères. Ann. Méd. Vét., 131, 457-462.
- Blancou, J., Kieny, M.P., Lathe, R., Lecocq, J.P., Pastoret, P.P., Soulebot, J.P., Desmettre, P. 1986. Oral vaccination of the fox against rabies using a live recombinant vaccinia virus. Nature, 322, 373-375.
- Brochier, B., Iokem, A., Ginter, A., Lejeune, E., Costy, F., Marchal, A., Péharpré, D., Couvreur, J.M., Dufey, J., Kalpers, J., Léonard, M., Bauduin, B., Desmecht, M., Schneider, L.G., Pastoret, P.P. 1987. Première campagne de vaccination antirabique du renard par voie orale menée en Belgique. Contrôles d'efficacité et d'innocuité chez le renard roux (Vulpes vulpes, L.); Ann. Méd. Vét., 131, 463-472.
- Brochier, B., Languet, B., Blancou, J., Kieny, M.P., Lecocq, J.P., Costy, F., Desmettre, P., Pastoret, P.P. Use of a recombinant vaccinia-rabies virus for oral vaccination of fox cubs (Vulpes vulpes, L.) against rabies. Vet. Microbiol. (soumis pour publication).
- Kalpers, J., Brochier, B., Lejeune, E., Quiroga Fernandez, S., Kabemba, M., Bauduin, B., Leonard, M., Pastoret, P.P. 1987. Première campagne de vaccination antirabique du renard par voie orale menée en Belgique. Contrôles d'innocuité chez les rongeurs et les insectivores. Ann. Méd. Vét., 131, 473-478.
- Kieny, M.P., Lathe, R., Drillien, R., Spehner, D., Skory, S., Schmitt, D., Wiktor, T., Koprowski, H., Lecocq, J.P. 1984. Expression of rabies virus glycoprotein from a recombinant vaccinia virus. Nature, 312, 163-166.
- Rupprecht, C.E., Wiktor, T.J., Johnston, D.H., Hamin, A.N., Dietzschold, B., Wunner, W.H., Glickman, L.T., Koprowski, H. 1986. Oral immunization and protection of raccoons (Procyon lotor) with a vaccinia-rabies glycoprotein recombinant virus vaccine. Proc. Nat. Acad. Sci., 81, 7194-7198.
- Schneider, L.G., Cox, J.H. 1983. Ein Feldversuch zur oralen immunisierung von Füchsen gegen die Tollwut in der Bundesrepublik Deutschland.

- Tierärztl. Umschau., 38, 315-324.
- Soria Baltazar, R., Blancou, J., Artois, M. 1987. Résultats de l'administration par voie orale au mouton de deux vaccins contenant un virus de la rage modifié (SAD B19) ou un recombinant du virus de la vaccine et de la rage (187 XP). Ann. Méd. Vét., 131, 481-486.
- Tolson, N.D., Charlton, K.M., Stewart, R.B., Campbell, J.B., Wiktor, T.J. 1987. Immune response in skunks to a vaccinia virus recombinant expressing the rabies virus glycoprotein. Can. J. Vet. Res., 51, 363-366.
- Wiktor, T.J., Kieny, M.P., Lecocq, J.P., Koprowski, H. 1984. Protection from rabies by a vaccinia virus recombinant containing the rabies virus glycoprotein gene. Proc. Nat. Acad. Sci., 81, 7194-7198.
- Wiktor, T.J., Mac Farlan, B., Dietzschold, B., Rupprecht, C., Wunner, W.H. 1985. Immunogenic properties of vaccinia recombinant virus expressing the rabies glycoprotein. Ann. Inst. Pasteur/virol., 136E, 405-411.